Lane Medical Library

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Greifswald.

Der Spermin- und Phosphorsäuregehalt normaler und leukämischer Organe.

(Ein Beitrag zur Natur der Charcot-Leyden-Kristalle.)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Universität Greifswald

vorgelegt von

Ella Buch

aus Siegen i. W.

Greifswald

Buchdruckerei Hans Adler, Inhaber: E. Panzig & Co.

1928

Eingereicht im Juli 1928.

Gedruckt mit Genehmigung der hohen medizin. Fakultät der Universität Greifswald.

Dekan: Prof. Dr. Meisner
Referent: Prof. Dr. med. et phil. Wrede
Correferent: Prof. Dr. med. et phil. Steinhausen.

Seit der ersten Beschreibung eigentümlicher Kristalle in Milz und Knochenmark leukämischer Menschen durch Charcot und Robin[1]) sind zahlreiche Beobachtungen über das Vorkommen und über die Natur dieser Bildungen angestellt worden. Es zeigte sich bald, daß sie sich nicht nur bei Leukämie im Blut und in der Leber finden, sondern gelegentlich auch reichlich im Sputum Asthmakranker[2]), ferner im Eiter bei Empyem[3]), vor allem aber in gewissen Nasenpolypen. Solche Charcot-Leydensche Kristalle können übrigens auch aus normalem Knochenmark gewonnen werden sowie nach einer von Liebreich angegebenen Methode aus Blut[4]).

Kristalle von ganz ähnlichen Eigenschaften bilden sich beim Aufbewahren von menschlichem Sperma. Sie wurden zuerst von Leeuwenhoek[5]) beschrieben, der sie in seiner Arbeit über die Entdeckung der roten Blutkörperchen erwähnt. Diese „Samenkristalle" wurden im Jahre 1878 von Schreiner[6]) untersucht. Es gelang ihm, so viel Material zu sammeln, daß er chemische Analysen anstellen konnte. Sein Material war aber nicht rein genug, so daß er zu falschen Analysendaten kam. Die Base, die er in den Kristallen an Phosphorsäure gebunden annahm, wurde von ihm Spermin genannt. Das „Spermin" findet seit Schreiners Untersuchungen immer wieder in den Lehr- und Handbüchern Erwähnung. Es ist jedoch bis vor kurzem keinem Forscher geglückt, das „Spermin" wieder zu erhalten. Die schwierige Beschaffung des

1) Charcot und Robin, Compt. rend. de la soc. biol. 1853, 43.
2) Leyden, Arch. (Anat. u.) Physiol. 54, 324 und 346, 1872.
3) Floderer, Wien. Klin. Wochenschrift 16, 276, 1903.
4) Liebreich, Le sang in vitre, Paris, Masson 1921; Liebreich, Klin. Wochenschrift 194, 1921; Mayr und Moncorps. Virchows Arch. 256, 19, 1925; Neumann, Wien. klin. Wochenschrift 948, 1922; Wien. Arch. f. inn. Med. 6, 407, 1923; Klin. Wochenschr. 1756, 1923; Wien. Arch. f. inn. Med. 7, 589, 1928.
5) Leeuwenhoek, Phil. Trans. Soc. London 12, 1042, 1678.
6) Liebigs Annalen, 194, 68, 1878.

Ausgangsmaterials mag Schuld daran haben, aber auch Schreiners mangelhafte Vorschrift zur Darstellung der Kristalle.

In den letzten Jahren wurde die Untersuchung der Samenkristalle durch Wrede wieder aufgenommen[7]). Es gelang ihm nach einem neuen Verfahren, die den Kristallen zugrunde liegende Base zu isolieren und sie als Chloroaurat, Chloroplatinat und dann auch als ganz charakteristisches, weil in Wasser schwer lösliches, Phosphat zur Abscheidung zu bringen. Auch stellte er gewisse Acylderivate her, mit denen es gelang, das Molekulargewicht der Base festzulegen. Es wurde so gezeigt, daß die Formel des Spermins $C_{10}H_{26}N_4$, die des Sperminphosphats $C_{10}H_{26}N_4 \cdot 2\ H_3PO_4 + 6H_2O$ ist. Nachdem genaue Methoden ausgearbeitet waren, das Spermin zu bestimmen, wurden die verschiedensten Organteile auf Spermin untersucht. Dabei zeigte sich merkwürdigerweise, daß sich diese Base keineswegs nur im Sperma findet, sondern auch in vielen anderen Teilen des menschlichen und tierischen Körpers.

Organe	Angewandte Menge g	Trockenes Chloroaurat mg	Berechnetes freies Spermin mg	Gehalt an freiem Spermin pro mille
Menschlicher Hoden	600	16	2,0	*0,003!*
Menschlicher Muskel	1000	70	8,8	0,009
Menschliches Gehirn	2000	240	30,0	0,015
Menschliche Milz	1000	180	22,5	0,023
Menschliche Leber	2000	800	100,0	0,050
Menschliches Pankreas	1000	430	53,8	0,054
Menschliches Sperma (In Alkohol konserviert)	200	600	75,0	*0,380!*

7) Wrede, Hoppe-Seyler, 153, 295, 1926.

Rindermuskel	800	64	8,0	0,010
Rinderhoden	1000	105	13,1	0,013
Rinderprostata	600	70	8,8	0,014
Rinderpankreas (weiblicheTiere)	1000	700	87,5	0,087
Rinderblut	1000	Spuren	Spuren	Spuren

Brauereihefe deutliche Mengen, aber nicht quantitativ bestimmt

So war es nun möglich, größere Mengen des Spermins zu gewinnen; als Ausgangsmaterial wurde von Wrede Rinderpankreas benutzt. Es gelang, die chemische Konstitution des Spermins festzulegen und zuletzt auch seine Synthese durchzuführen. Die Konstitution des Spermins ist $NH_2\ (CH_2)_3\ NH\ (CH_2)_4\ NH\ (CH_2)_3\ NH_2$[8]). Es ist damit eine Verbindung im Körper nachgewiesen, deren Konstitution wesentlich verschieden ist von denen anderer Verbindungen des Organismus. Irgendwelche Anhaltspunkte für die Entstehung dieses Körpers liegen noch nicht vor. Die Konstitution erlaubt nicht, ihn ohne weiteres als Abbauprodukt von Eiweißkörpern zu betrachten.

Es darf wohl kaum daran gezweifelt werden, daß die Sperminphosphatkristalle in der Samenflüssigkeit identisch sind mit den Kristallen, die von Charcot und Leyden und von anderen Forschern in Milzen, im Knochenmark, Sputum, in Nasen-Polypen und vielen anderen Organen und Körperflüssigkeiten nachgewiesen worden sind. Denn ihr Aussehen ist ganz gleich, soweit sich das bei der Kleinheit der Objekte entscheiden läßt. Ebenso sind die chemischen Reaktionen dieselben. Eine Isolierung der sog. Charcot-Leyden-Kristalle, wie sie sich im Gewebe fanden, ließ sich wegen ihrer Kleinheit und ihrer relativ geringen Maße nicht durchführen. Nachfolgend mögen die Eigenschaften der Charcot-Leyden-Kristalle und der Sperminphosphat-Kristalle noch einmal kurz vergleichend zusammengestellt werden:

Zenker[9]) beschreibt die Charcot-Leydenschen Kristalle folgendermaßen: „Die in Rede stehenden Krystalle fand ich

8) Wrede, Hoppe-Seyler 161, 66, 1926; 163, 219, 1926.
9) Zenker, Dt. Arch. f. klin. Med. 18, 128, 1876.

in drei Fällen von lienaler Leukämie in der Milz, und zwar im Falle 1 und 2 in sehr großer Menge, im Falle 2 waren alle Präparate mit unzähligen Krystallen übersät, während sie im Falle 3 sich nur sehr spärlich fanden. Auch im Blut fand ich sie im Falle 1 in sehr großer Menge, am zahlreichsten in der Milzvene. In dem dem lebenden Kranken 3 Wochen vor dem Tode entnommenen Blut waren sie noch nicht vorhanden gewesen. — Die Krystalle waren in allen Fällen sehr klein. Die kleinsten bei 500facher Vergrößerung nur eben noch als Krystalle kenntlich, die größten 0,017 mm lang und 0,005 mm breit. Ihrer Form nach zeigten sie sich als langgestreckte Octaeder. Bei den meisten waren die stumpfen Winkel so abgestumpft, daß sich die Krystalle als schmale fein zugespitzte Spindeln darstellten. Bei einzelnen dieser Spindeln waren eine oder beide Spitzen abgestumpft oder anscheinend abgebrochen, so daß dann die Krystallform ganz verwischt erschien. Die Krystalle waren farblos, wenn auch einige der kleineren zunächst einen bläulichen oder gelblichen Schein zeigten, der jedenfalls nur auf optischer Täuschung beruhte. Was die mikrochemische Reaktion der Krystalle betrifft, so fand ich sie in Wasser unlöslich, dagegen wurden sie durch Essigsäure, Schwefel- und Salpetersäure, durch Aetzkali und Aetzammoniak vollständig aufgelöst. Die Krystalle waren noch 5 Wochen nach der Sektion in dem stark gefaulten Blut in Mengen vorhanden. In einer Blutprobe fanden sie sich sogar noch nach 5 Jahren in großer Zahl vor. Es spricht dies für eine enorme Resistenz der Krystalle gegen Fäulnis."

Andere Forscher[10]) fanden, daß die Kristalle sich in Alkohol, Aether und Chloroform nicht lösen, daß sie aber löslich sind in heißem Wasser. Erwähnt werden mag noch, daß Kristalle von gleicher oder ähnlicher Form und ähnlichen Löslichkeitsverhältnissen im Körper sonst nirgendwo beobachtet worden sind.

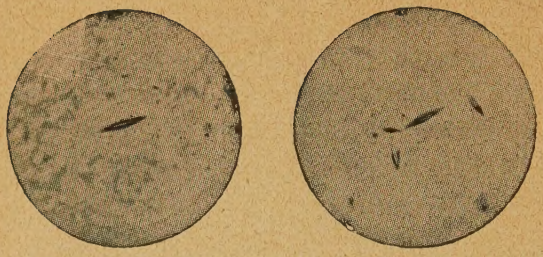
---

10) Neumann, Archiv f. mikr. Anat. 2, 508, 1866. Leyden, Archiv Anat. und Physiol. 54, 324 und 346, 1872; Böttcher, Archiv, Anat. und Physiol. 32, 525, 1865.

Interessant ist weiter die Beobachtung Floderer's, der die Kristalle im Eiter eines Empyems fand und dem es gelang, diese Kristalle zwar nicht selbst zu isolieren, aber immerhin sie durch Wasser zu extrahieren und aus dem Extrakt Kristalle von gleicher Form zu erzeugen. Er fällte den Eiter mit dem doppelten Volum Alkohol, der Niederschlag wurde isoliert, mit heißem Wasser extrahiert, das Filtrat wurde zum Syrup eingedampft. Beim Stehen dieses Syrups entstand ein Kristallbrei, „in dem sich zahlreiche Kristalle von der schon makroskopisch erkennbaren Form der Charcot-Leyden Kristalle befanden, einzelne von einer Länge von 3—4 mm. Die Kristalle waren farblos. Isoliert zeigten sie neutrale Reaktion, waren in kaltem Wasser schwer, in heißem leicht löslich, unlöslich in Alkohol, Aether und Chloroform, zeigten beim Erhitzen Aufschäumen und hinterließen eine Asche, in der Phosphorsäure reichlich nachgewiesen werden konnte. Die wässrige Lösung ergab Biuretreaktion und Fällung mit Gerbsäure, Phosphorwolframsäure und Sublimat. Die Kristalle färbten sich mit Jodjodkalium nicht dunkel. Diese Eigenschaften zeigten mit den bisherigen Angaben über Charcot-Leyden'sche Kristalle volle Übereinstimmung." An der Beobachtung Floderer's ist besonders wichtig der Nachweis von Phosphorsäure.

Diese geschilderten Eigenschaften der Charcot-Leyden-schen Kristalle finden sich bei den reinen Sperminphosphat-Kristallen wieder. Die Kristalle haben dieselbe Form (s. Abb.); sie lösen sich nicht in Alkohol, Aether, Chloroform und kaltem Wasser, wohl aber lösen sie sich in verdünnten Säuren und verdünnten Laugen sowie in heißem Wasser.

Gleiches Verhalten der Charcot-Leyden'schen Kristalle und der Sperminphosphat-Kristalle zeigte sich auch bei der Färbbarkeit: Auf Zusatz einer Eosinlösung zu Sperminphosphat-Kristallen wandert der Farbstoff fast quantitativ in die Kristalle hinein. Es bildet sich offenbar eine salzartige Verbindung zwischen Eosin und Spermin. Dabei kann die Kristallform u. U. erhalten bleiben: An Stelle des Sperminphosphats ist eine feinkörnige, rote Fällung getreten, die in ihrem Zusammenhang die Kristallform des Sperminphosphats vor-



Charcot-Leyden Kristalle.

Sperminphosphatkristalle.

täuschen kann. Schüttelt man derartige scheinbare Kristalle in ihrer wässrigen Suspension, so zerfallen sie in ein feines, rotes, amorphes Pulver. Das Verhalten der Charcotkristalle ist nur scheinbar ein etwas anderes; denn sie sind bei der Färbung fest in ein Substrat von Eiweiß usw. eingebettet. Nehmen sie den Farbstoff auf, so wird die Form des ursprünglichen Kristalls selbstverständlich erhalten bleiben müssen, da die Verbindung des Farbstoffs mit Spermin sich gewissermaßen in einer hohlen Form befindet.

Ebenso wie die Charcotkristalle sich nach Gumprecht's Ansicht[11]) mit Sublimat verändern, tun dies die Sperminphosphatkristalle. Auch hier bildet sich eine trübe, amorphe,

11) Gumprecht, Verhandlungen des 20. Kongresses für inn. Medizin.

körnige Masse, eine Verbindung zwischen Spermin und Sublimat, die häufig die Form des ursprünglichen Phosphatkristalls beibehält.

Wie ersichtlich, geben alle beobachteten Eigenschaften Berechtigung zu der Ansicht, daß die Charcot-Leydenschen Kristalle mit den Spermakristallen, bezw. Sperminphosphat, identisch sind.

Erwähnt werden muß allerdings hier eine Behauptung Cohns[12]), daß die Charcotkristalle sich von den Spermakristallen unterscheiden, und zwar sollen die beiden Kristallarten verschiedenen Kristallsystemen angehören (nämlich die Spermakristalle dem monoklinen, die Charcotkristalle dem hexagonalen System). Zu bedenken ist, daß Cohn beide Kristallarten im isolierten Zustand nicht zur Verfügung hatte, und daß die Untersuchung, die er an sehr verschieden großen Kristallen in durchaus verschiedenen Medien anstellte, doch wohl einigen Grund zur Skepsis geben dürfte. Solange die Kristalle nicht isoliert werden können, dürfte eine kristallographische Untersuchung immerhin nur mit Vorsicht aufzunehmen sein. Kristallographische Untersuchungen, die z. T. im Greifswalder mineralogischen Institut ausgeführt wurden, gaben kein positives Resultat. Die Untersuchung stieß — hauptsächlich wegen der Kleinheit der Charcotkristalle und wegen ihrer Nichtisolierbarkeit — auf erhebliche Schwierigkeiten.

Mir war unter anderem die Aufgabe gestellt worden, zu untersuchen, ob der Spermingehalt und der Phosphorsäuregehalt in solchen Organen, in denen sich reichlich Charcot-Leyden-Kristalle fanden, sich wesentlich unterschied von dem Spermin- und Phosphorsäuregehalt normaler Organe. Da die Charcot-Leyden-Kristalle als solche wegen ihrer geringen Masse nicht isolierbar und analysierbar waren, wurde untersucht, ob die Organe, in denen sich diese Kristalle finden, gegenüber normalen Organen eine wesentliche Vermehrung ihres Gehaltes an Spermin und Phosphorsäure zeigten. Zur Untersuchung wurden Milzen von möglichst normalen Men-

12) Cohn, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 54, 515, 1894.

schen auf Spermin und Phosphorsäure analysiert, andererseits Milzen von Leichen leukämischer Menschen, die einen reichen Gehalt an Charcotkristallen aufwiesen.

Die Resultate der Untersuchungen, die im Greifswalder Physiologischen Institut, z. T. gemeinsam mit Fräulein cand. med. Franziska Boldt ausgeführt wurden, mögen im folgenden kurz zusammengestellt werden:

In der normalen menschlichen Milz wurden durchschnittlich gefunden:

0,026‰ Spermin und 2,26% P_2O_5.

In Leukämiemilzen wurden durchschnittlich gefunden:

0,066‰ Spermin und 3,65% P_2O_5.

Es geht daraus hervor, daß die Organe, in denen sich Charcotkristalle finden, wesentlich reicher sowohl an Spermin als auch an Phosphorsäure sind. Damit ist ein sehr wesentlicher weiterer Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür erbracht, daß die Charcotkristalle aus Sperminphosphat bestehen. Übrigens ist die Menge der Phosphorsäure in den Organen eine sehr viel größere, als zur Bildung des Phosphats aus dem vorhandenen Spermin nötig wäre. 1 g Spermin brauchen etwa 0,7 g P_2O_5 zur Bildung des Sperminphosphats $C_{10}H_{26}N_4 \cdot 2H_3PO_4 + 6H_2O$. In den Organen ist annähernd 200 mal mehr Phosphor vorhanden, als im Sperminphosphat gebunden ist. Merkwürdigerweise ist also in den leukämischen Milzen auch der Phosphorgehalt wesentlich gesteigert.

Aus den Befunden irgendwelche Schlüsse auf die Entstehung der Leukämie zu ziehen, ist wohl gewagt, namentlich solange man nichts Näheres über den Entstehungsmechanismus des Spermins im Körper weiß. Wie oben erwähnt, kann man nach den vorläufigen Kenntnissen Spermin nicht als Zerfallsprodukt irgendeiner Körpersubstanz ansprechen. Daß gesteigerte Sperminmengen eine toxische Wirkung auf den Organismus haben, ist zur Zeit auch noch nicht erwiesen. Jedenfalls wurde bei kurzdauernder Darreichung von Spermin keine schädigende Wirkung auf den Organismus festgestellt. Die Vermehrung der Phosphorsäure bei Leukämie dürfte ja relativ leicht aus dem Zerfall von Leukocyten zu erklären sein, die ja reich an Phosphorsäure sind.

Methodisches.

Spermin-Analysen.

Die Spermin-Analysen wurden teilweise von Frl. cand. med. F. Boldt ausgeführt. Das Spermin wurde als Phosphat bei einer Wasserstoffionenkonzentration von 7,0 gefällt[13]). Das Phosphat wurde in wenig Salzsäure gelöst und als Chloroaurat gefällt, getrocknet und gewogen. Das Gewicht des Chloroaurats (Mol. Gew. 1634) : 8 gibt die Menge des freien Spermins (Mol. Gew. 202).

1. Milz eines durch Unfall umgekommenen Menschen: 100 g gaben 18 mg trocknes Chloroaurat = 2,25 mg. freies Spermin.

Gefunden 0,023 $^0/_{00}$ Spermin.

2. Milz eines durch Unfall umgekommenen erwachsenen Mädchens: 190 g gaben 44 mg Chloroaurat = 5,5 mg freies Spermin.

Gefunden 0,029$^0/_{00}$ Spermin.

3. Milz einer Myeloblastenleukämie: 300 g gaben 180 mg Chloroaurat = 23,0 mg freies Spermin.

Gefunden 0,077$^0/_{00}$ Spermin.

4. Milz einer myeloischen Leukämie: 500 g gaben 240 mg Chloroaurat = 30 mg freies Spermin.

Gefunden 0,06$^0/_{00}$ Spermin.

5. Milz einer subakuten Leukämie: 370 g gaben 210 mg Chloroaurat = 26,0 mg freies Spermin.

Gefunden 0,07$^0/_{00}$ Spermin.

6. Milz einer myeloischen Leukämie: 840 g gaben 385 mg Chloroaurat = 48 mg freies Spermin.

Gefunden 0,057$^0/_{00}$ Spermin.

Phosphorsäure-Analysen.

Die Phosphorsäurebestimmungen wurden teils nach Neumann auf titrimetrischem Wege, teils nach Pregl durch Schmelzen der Substanz mit Soda-Salpeter im Sauerstoffstrom, Fällen und Wägen der Phosphorsäure als Ammonium-

13) Wrede, Hoppe-Seyler, 153, 302, 1926.

phosphormolybdat ausgeführt (Mikromethode). Von den Milzen wurden meist 10 g frisch abgewogen, auf dem Wasserbade möglichst zur Trockne gebracht und dann im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die gut durchmengte, fein pulverisierte Masse wurde zu den Analysen verwandt.

Methode der Phosphorsäurebestimmung.
(Nach Pregl.)[14].

Die Phosphorsäure wird in salpetersaurer Lösung unter ganz bestimmten Bedingungen als phosphormolybdänsaures Ammonium gefällt. Dies wird gewogen. Sein Gewicht ist etwa 30 mal so groß als das in ihm enthaltene P_2O_5, so daß die Wägung des Niederschlages nicht einmal mit einer Mikrowage vorgenommen zu werden braucht. Die genaue Zahl, mit der das Gewicht des gelben Niederschlages multipliziert werden muß, um das Gewicht an P_2O_5 zu erhalten, ist zu 0,03326 empirisch ermittelt worden.

Zu der Methode werden folgende Reagentien benutzt:

Sulfat-Molybdänreagens: 25 g Ammoniumsulfat werden mit 250 ccm HNO_3 (sp. G. 1,36) in einem 500 ccm-Kolben gelöst. 75 g Ammoniumolybdat werden mit 200 ccm kochendem Wasser gelöst. Die Lösungen werden nach Abkühlen unter Umrühren vereinigt. Dann wird auf 500 ccm aufgefüllt. Nach 2 Tagen wird filtriert. Das Reagens wird in einem dunklen Glas kühl aufbewahrt.

Schwefelsäurehaltige Salpetersäure: 15 ccm konzentrierte H_2SO_4 werden mit 357 ccm HNO_3 (sp. G. 1,40) auf 500 ccm Wasser aufgefüllt.

2%ige Lösung von reinem Ammoniumnitrat: Wenn die Lösung nicht schwach sauer ist, wird sie mit etwas HNO_3 angesäuert.

Reiner Alkohol von 95% und reiner Aether, der bei Verdunsten keinen Rückstand hinterläßt.

Reinste kalzinierte Soda und reinstes Kaliumnitrat werden zu gleichen Teilen gepulvert und gemischt. Etwa 15 bis

14) Die quantitative organische Mikroanalyse, Springer 1917, S. 133.

25 mg der Substanz werden in einem Platinschiffchen, wie ein solches für die Mikro-Kohlen- und Wasserstoffbestimmung gebraucht wird, genau abgewogen. Dann wird die Substanz mit wenig Salpeter-Sodagemisch mit Hilfe eines kleinen Platindrahtes gemischt. Der Platindraht wird mit ins Schiffchen gelegt. Das Schiffchen wird nun mit Salpeter-Sodagemisch beschickt, bis es etwa ¾ gefüllt ist. Es wird nun vorsichtig in ein kurzes Stück Rohr aus widerstandsfähigem Glas eingeführt. Das Rohr ist etwa 15 cm lang, an einem Ende zu einer nicht zu engen Kapillare ausgezogen. Das weite Ende des Rohres wird mit einem Sauerstoff-Gasometer verbunden, von dem aus ein langsamer Sauerstoffstrom durch das Rohr geleitet wird. Jetzt wird vorsichtig mit dem Bunsenbrenner erhitzt, und zwar entgegen der Richtung des Sauerstoffstromes, wobei die erhitzte Stelle durch eine kurze Eisendrahtnetzrolle geschützt wird. Die Kapillare ist nach oben gerichtet. Nach dem Erkalten wird das Schiffchen in einem weiten Reagenzglas mit verdünnter Salpetersäure ausgekocht Die Lösung wird durch ein kleines Filter in das Reagenzglas filtriert[15]) (quantitativ), in dem die Fällung vorgenommen werden soll. Falls etwas von der Schmelze im Rohr verspritzt war, wird auch dieses mit warmer verdünnter Salpetersäure ausgewaschen.

Zur Fällung werden *2* ccm der schwefelsäurehaltigen Salpetersäure zu der gelösten Substanz gegeben, worauf mit Wasser auf etwa 15 ccm verdünnt wird. Das Reagenzglas wird im siedenden Wasserbade erhitzt. In die heiße Lösung werden unter Umschwenken 15 ccm des Sulfat-Molybdänreagenzes gegeben. Das Gefäß bleibt *3* Minuten ruhig stehen, worauf wieder eine halbe Minute umgeschwenkt wird, nach 1—*2* Stunden hat sich der Niederschlag abgesetzt, sodaß er abgesaugt werden kann. Das Filterröhrchen (nach Pregl) ist bei der Erweiterung mit etwas zusammengerolltem Platindraht versehen, auf ihm befindet sich eine Schicht gut gewaschener Asbest. Das Röhrchen wird vor der Analyse mit

15) Die Lösung ist bei vollkommener Verbrennung absolut klar, sodaß sich ein Filtrieren erübrigt.

Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen und in einem evakuierten Exsikkator, der kein Trockenmittel enthält, mindestens eine halbe Stunde aufbewahrt, dann sofort gewogen. Nachdem die Apparatur entsprechend zusammengestellt ist, wird durch Saugen mit der Wasserstrahlpumpe zuerst die Flüssigkeit, dann der Molybdänniederschlag in das Filterröhrchen gebracht. Er wird gründlich mit der 2%igen Ammoniumnitratlösung nachgewaschen. Sollte in dem Reagenzglas Niederschlag an den Wänden haften, so wird versucht, ihn durch abwechselndes Umschwenken mit Alkohol und Ammoniumnitratlösung loszulösen. Zuletzt wird der Niederschlag einmal mit Alkohol, dann zweimal mit Aether nachgewaschen. Das Röhrchen wird im Vakuumexsikkator (ohne Trockenmittel) von Aether und Feuchtigkeit befreit, dann gewogen, wobei man nach dem Herausnehmen aus dem Exsikkator dieselbe Zeit bis zur Vollendung der Wägung verstreichen läßt, wie bei der Wägung des leeren Röhrchens. Wägung auf $^1/_{10}$ mg Genauigkeit genügt.

Das mit Molybdat gefüllte Röhrchen kann gereinigt werden, indem der Niederschlag mit Ammoniak gelöst wird. Dann wird mit verdünnter heißer Salpetersäure, danach mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen und wie oben getrocknet.

Zur Berechnung wird die gefundene Menge Molybdat mit dem empirisch ermittelten Faktor 0,0326 multipliziert, dieser Wert wird mit $\frac{100}{\text{Substanz}}$ multipliziert, wodurch der Prozentgehalt an P_2O_5 erhalten wird.

Phosphorsäure-Analysen.

1. Milz einer durch Unglücksfall ums Leben gekommenen Person:

10 g frische Milz ergaben beim Trocknen im Vakuum über H_2SO_4 2,08 g Trockenpulver.

19,34 mg Trockenpulver gaben 14,609 mg Ammoniumphosphormolybdat.

19,5 mg Trockenpulver gaben 14,63 mg Ammoniumphosphormolybdat.

Gefunden 2,51% P_2O_5,
Gefunden 2,49% P_2O_5.

2. Milz einer durch Unfall umgekommenen Person:

10 g Milz ergaben beim Trocknen im Vakuum über H_2SO_4 2,303 g Trockenpulver.

20,44 mg Trockenpulver gaben 12,497 mg Ammoniumphosphormolybdat.

20,370 mg Trockenpulver gaben 12,485 mg Ammoniumphosphormolybdat.

Gefunden 2,03% P_2O_5,
Gefunden 2,03% P_2O_5.

3. Milz einer myeloischen Leukämie:

10 g Milz ergaben beim Trocknen im Vakuum über H_2SO_4 2,30 g Trockenpulver.

17,323 mg Trockenpulver gaben 19,458 mg Ammoniumphosphormolybdat.

22,472 mg Trockenpulver gaben 25,172 mg Ammoniumphosphormolybdat.

21,243 mg Trockenpulver gaben 23,92 mg Ammoniumphosphormolybdat.

Gefunden 3,73% P_2O_5.
Gefunden 3,73% P_2O_5.
Gefunden 3,75% P_2O_5.

4. Milz einer myeloischen Leukämie:

6 g Milz ergaben beim Trocknen im Vakuum über H_2SO_4 1,34 g Trockenpulver.

23,7 mg Trockenpulver gaben 25,4 mg Ammoniumphosphormolybdat.

18,64 mg Trockenpulver gaben 20,0 mg Ammoniumphosphormolybdat.

21,32 mg Trockenpulver gaben 22,8 mg Ammoniumphosphormolybdat.

Gefunden 3,57% P_2O_5.
Gefunden 3,57% P_2O_5.
Gefunden 3,56% P_2O_5.

Zusammenfassung.

Die Kristalle, die im Sputum Asthmakranker, in leukämischen, aber auch in normalen Organen von Charcot, Leyden, Neumann u. a. beobachtet wurden, werden verglichen mit den Kristallen, die sich aus menschlichem Sperma abscheiden und als Phosphat des Spermins $C_{10}H_{26}N_4 \cdot 2H_3PO_4 + 6H_2O$ erkannt wurden. Für ihre Identität sprechen folgende Beobachtungen:

1. Bei mikroskopischer Betrachtung gleiche Kristallform.
2. Die gleichen Löslichkeitsverhältnisse in Säuren, Alkalien, kaltem und heißem Wasser.
3. Das gleiche Verhalten zu Eosin und Sublimat.
4. Die auffallende Vermehrung des Spermins wie der Phosphorsäure bei Erkrankungen, die als Charakteristikum ein vermehrtes Auftreten der Kristalle zeigen. Leukämieorgane (Milzen) enthielten ungefähr drei mal soviel Spermin wie normale.

Lebenslauf.

Ich, *Ella Buch,* Tochter des Kaufmanns Karl Buch, wurde am 8. Februar 1898 zu Siegen in W. geboren. Bis zum 16. Lebensjahre besuchte ich das evgl. Lyzeum in Essen. Herbst 1922 wurde ich bei der philos. Fakultät in Bonn eingetragen. Im 3. Semester bestand ich das Abitur an der Oberrealschule in Bonn. Mit Genehmigung des Ministeriums wurde ich in die Mediz. Fakultät Bonn aufgenommen. Im Frühjahr 1925 bestand ich am Realgymnasium in Bonn das Latinum, Ende Sommersemester 1925 die ärztliche Vorprüfung. Die klinischen Semester verbrachte ich in München, Greifswald und Bonn. Das Medizinische Staatsexamen bestand ich im Juli 1928 in Bonn.